

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：34416

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26820050

研究課題名(和文)管内流れ中で変形する物体周りにおける微小粒子のダイナミクス

研究課題名(英文)Motion of fine particles through deformable objects in a flow

研究代表者

大友 涼子(Otomo, Ryoko)

関西大学・システム理工学部・助教

研究者番号：00726862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では粘性が支配的な系において、1)流れ中での物体の変形、2)物体の間隙を流れる微小粒子の移動に着目した。1)では特に赤血球について、流れ中における変形および浸透圧差に起因する変形の挙動を実験により調べ、定量的に評価した。2)では、障害物の間隙を流れる微小粒子懸濁液の移動特性を実験と数値解析により調べた。実験では球形ガラスビーズを充填した準二次元流路中に微小粒子懸濁液を流し、流路内の微小粒子分布とその時間変化を詳細に調べた。数値解析ではストークス動力学法を用いて粒子間隙を移動する微小粒子群挙動を求め、粒子の空隙率と個々の微小粒子の速度および微小粒子群全体の拡がり方との関係について明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The deformation of objects in a flow and the motion of fine particles through interstitial fluid have been examined under the condition of the low Reynolds number. In the former subject, we experimentally investigated the deformation of the red blood cell caused by the fluid force in a flow and by the osmotic pressure difference. In the latter subject, the migration characteristics of fine particles suspension in a square channel with obstacles were evaluated by experiment and numerical simulation. In the experiment, the spatial distribution of the particle suspension, which flows in the quasi-two-dimensional square channel filled with glass particles, was closely observed. In the numerical simulation, the motion of granular assemblage though the particulate bed was calculated by the Stokesian dynamics approach and the relationship between the porosity of the bed and the behavior of the granular assemblage was quantitatively presented.

研究分野：流体力学

キーワード：マージネーション Stokes flow 粒子充填層 空隙分布

## 1. 研究開始当初の背景

血管で血小板が管壁付近に移動するマージネーションのメカニズムを調べるための研究が数多く行われている。既存の研究成果により、マージネーションは (A) 管内流れ中のせん断応力によって赤血球が変形し、流れに対して垂直に移動し流路中心に移動 (軸集中) するプロセス、および、(B) 赤血球の間隙中を血小板が移動し、赤血球の少ない管壁付近 (cell-free layer) と呼ばれるに分布するプロセスの2段階に分けて説明できることが明らかとなってきた (L. Crowl and A. L. Fogelson, J. Fluid Mech., vol.676, pp.348-375, 2011)。これまでの研究では、せん断速度、血球サイズおよび形状、ヘマトクリット (Hct, 血液中の赤血球の体積率) といったパラメータを変化させて実験や数値解析を行ってきたが、血小板マージネーションの詳細なメカニズムについて未解明の部分が多かった。

血小板マージネーションが上で述べた2段階のプロセスによって生じるとすると、その個々のプロセスに対して、既存の研究結果から次のような知見が得られていることになる。プロセス(A)に関しては、赤血球の軸集中は赤血球の変形と管内流れ中のせん断応力によるものであり、同様に変形する液滴などを管内流れ中浮遊させた場合にも、せん断速度の小さい流路中心付近 (軸付近) への集中がみられることが明らかとなっている。プロセス(B)に関しては、液中の微粒子が移流拡散によって流路の狭い部分から広い部分に移動する現象を赤血球および血小板に適用した drift-diffusion モデルが提案されている。しかしながら、血小板マージネーションのメカニズムを解明するためには、これらの各プロセスに対してより詳細な解析を行う必要があり、管内流れ中における赤血球および血小板挙動についての新たな知見が待たれている。

## 2. 研究の目的

本研究では、管内流れ中において変形する物体および微小粒子の挙動について調べることを目的とする。具体的には、次の3点について特に重点的に調べることを目標とした。(1) 血小板マージネーションにおける赤血球の役割について調べる準備段階として、流れ中で変形する赤血球の挙動を実験により調べる。(2) さまざまな形状を有する粒子を充填した流路を作製し、その間隙中の微小粒子の運動を観察することで、赤血球間隙中における血小板の移動について基礎的知見を得る。(3) 粒子間隙中の微小粒子の移動について数値解析を行い、間隙形状が微小粒子挙動に及ぼす影響について考察する。

## 3. 研究の方法

## (1) 流れ中で変形する赤血球の挙動

まずは赤血球をマイクロチャネル (幅  $50\mu\text{m}$  × 高さ  $50\mu\text{m}$ ) に流し、その挙動の観察を試みた。健常な成人男性の血液を採取し、血漿およびバツフィーコートを取り除いて、赤血球の懸濁液を作製する。さらに赤血球を生理食塩水で洗浄した後、MAP 液で希釈したものをサンプル溶液とする。赤血球挙動を観察しやすくするため、一部の赤血球に対して DiIC12(3) を加えて蛍光染色した。シリンジポンプを用いて赤血球サンプル溶液を流量  $Q = 0.1\mu\text{l}/\text{min}$  で流路内に流し、蛍光顕微鏡でその挙動を観察した。

次に、1つの赤血球の変形挙動を知るために、蛍光染色した赤血球サンプル溶液に  $0.1\text{wt}\%$  の NaCl 水溶液を加え、浸透圧によって赤血球が変形する様子を観察した。両凹円盤形状を有する赤血球の形状変化を厚さ方向から観察し、得られた画像から軸対称を仮定して赤血球の表面積および体積を評価した。

## (2) 間隙を流れる微粒子の移動特性

内部に粒子を充填した準2次元流路を作製し、より微小な蛍光粒子を分散させた流体を流してその挙動を観察する。準2次元流路 (幅  $5.0\text{mm}$ 、厚さ  $0.8\text{mm}$ 、長さ  $50.0\text{mm}$ ) に球形のガラスビーズを充填し、その中を流れる微小粒子 (蛍光微粒子) の懸濁液の挙動を顕微鏡により観察した。密度を調整した水とグリセリンの混合溶液 ( $\rho = 1.1 \times 10^3 \text{ kg}/\text{m}^3$ ,  $\mu = 4.7 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ ) に微小粒子を中立浮遊させてガラスビーズ充填流路中に流した。充填するガラスビーズのサイズ (直径  $0.6 \sim 0.7\text{mm}$  および  $0.3 \sim 0.4\text{mm}$ )、流体に懸濁させる微粒子のサイズ (直径  $15\mu\text{m}$  および  $69\mu\text{m}$ )、および流量を変化させ ( $Q = 0.25, 0.50, 0.75$ , および  $1.00\text{mL}/\text{min}$ )、障害物の存在下での微粒子懸濁液挙動について、特に流路内における微粒子の偏りやその時間変化に着目して整理した。

## (3) 粒子層中を流れる微粒子挙動

Stokes 近似が成り立つ系を仮定し、多粒子の存在による流体力学的効果を考慮した流動場の解析が可能である Stokesian dynamics (SD) 法を (J. F. Brady et al., J. Fluid Mech., vol.195, pp.257-280, 1988) 用い、間隙を流れる流体中の微粒子挙動の解析方法を検討した。SD 法では、Stokes 方程式および連続の式の解として得られた流体速度に Oseen テンソルの多重局展開を適用する。複数の粒子の存在によって乱された流れを導くと、粒子と流体の相対速度  $U - u^\infty$  と各粒子 - 流体間の相互作用力  $F$  との関係が次式で表される。

$$U - u^\infty = M \cdot F$$

ここで  $M$  は移動度行列と呼ばれ、各粒子間の距離により決定される。式の関係に基づき、静止した粒子群 (粒子速度  $U = 0$ ) の間隙中を外力  $F = (0, 0, -1)$  によって移動する粒子群の速度を算出した。さらに各粒子速度を用いて2次のルンゲ・クッタ法により粒子層中

の微粒子位置の時間変化を算出した。

#### 4. 研究成果

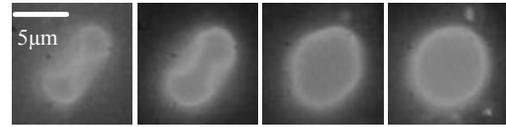
##### (1) 流れ中で変形する赤血球の挙動

赤血球をマイクロチャンネルに流す実験では、蛍光染色した赤血球から発する光が周囲の赤血球によって吸収されてしまい、うまく赤血球の変形挙動を観察することができなかった。蛍光染色した赤血球を混ぜる割合などを変えて試行錯誤を行ったが、血液中のような多くの Hct の大きな条件での変形挙動を解明するには至らなかった。

1 つの赤血球の変形挙動について、赤血球に 0.1wt% の NaCl 水溶液を加えた場合の変形挙動を図 1 に示す。ただし時間は赤血球体積が最大となった時刻  $t_{\max}$  で無次元化されている。(a)  $t = 0$  s は低張液を加える前の赤血球で、中央が窪んだ形状を有することが確認できる。この赤血球に NaCl 水溶液を加えると、浸透圧差によって水が浸入するために膨張が起こり、徐々に円形に近い断面形状へと変化した。2 つの異なる赤血球に対して、一連の赤血球の形状変化から軸対称を仮定して体積の時間変化を調べた結果を図 2 に示す。 $t/t_{\max} = 0$  は NaCl 水溶液を加える前の健全な赤血球の状態を表している。健全な赤血球体積の文献値は  $85.0 \sim 105.0 \mu\text{m}^3$  であり(菅原基晃, 前田信治, 血液のレオロジーと血流, コロナ社, 2003), おおよそ妥当な結果を得ることができた。図 2 を 3 つの段階に分け、考察する。まず(I)の段階では、時間経過に伴い顕著な体積増加がみられる。これは、浸透圧差によって外部の水分子が赤血球膜に存在するアクアポリンを通して内部へ浸入したためである。図 1(b)および(c)の結果と対応させると、赤血球は体積膨張するとともに球体に近い形まで変形することがわかる。その後(II)では、短い時間で体積が少しだけ減少する傾向がみられた。体積減少の理由として、赤血球膜に小孔が形成されて内部の物質が外部に浸出し始めたこと等が推察されるが、本結果からは実際の様子は明らかでない。最終的に(III)でみられる通り、赤血球は一定の体積を保ち、徐々に内部物質の漏出が進み溶血に至ることがわかる。こうした結果から、1 つの赤血球が膨張する挙動を実験により捉えることができた。本実験結果から流体での赤血球膜の力学特性の評価が期待されるが、本研究期間内には至らなかったため、今後の課題としたい。

##### (2) 間隙を流れる微粒子の移動特性

ガラスビーズ大(直径約 0.6~0.7mm)およびガラスビーズ小(直径約 0.3~0.4mm)を充填させた流路内に蛍光微粒子(直径 15 $\mu\text{m}$ )の懸濁液を流し、流路幅方向の蛍光微粒子の分布を調べた。流路の下流側(入口から約 30mm)の位置を蛍光顕微鏡で観察し、撮影した画像の輝度値の高さが蛍光微粒子の量に比例すると仮定し、微粒子分布について考



(a)  $t/t_{\max}=0.00$  (b)  $t/t_{\max}=0.52$  (c)  $t/t_{\max}=0.88$  (d)  $t/t_{\max}=1.00$

図 1 赤血球形状の時間変化

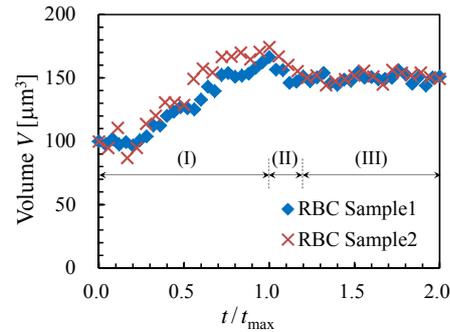
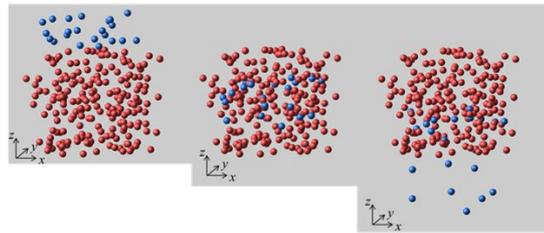


図 2 赤血球体積の時間変化



(a)  $t = 0$  (b)  $t = 20$  (c)  $t = 40$

図 3 粒子層中を流れる微粒子群挙動

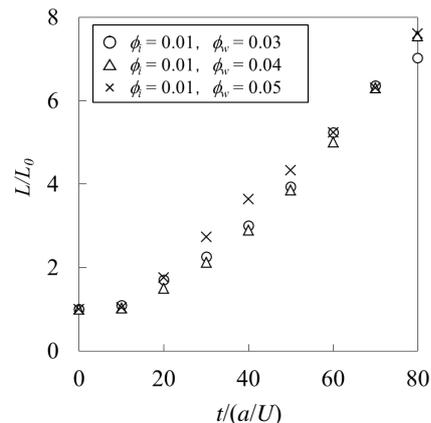


図 4 微粒子群の厚さの変化

察を行った。本実験結果では、壁面近傍において蛍光微粒子の流れる量が多く、流路中央では最も蛍光微粒子が少なかった。これは、ガラスビーズが互い違いに充填された流路中央よりも、ビーズと壁が接する壁近傍の方が大きな空隙が存在するためと考えられる。本実験は各条件につき数回程度しか行っていないため再現性の確認などの課題は残るものの、さまざまな条件で実験を行い、微粒子の個々の挙動および流路内での分布が、ガラスビーズのサイズや配置によって大きく影響を受けることが示された。

### (3) 粒子層中を流れる微粒子挙動

研究代表者が既存の研究で用いていた SD 法は、多重局展開の 0 次と 2 次のトレースのみを考慮した F バージョンと呼ばれるものであった。しかし、本研究のような非対称な粒子運動を再現するためには F バージョンは不十分であり、さらに高次の項まで含めた計算が必要であることがわかった。このため、SD 法は有効であるものの既存のコードに大幅な改良が必要となった。改良の結果、粒子と流体の並進運動のみを考慮した従来の計算に加え、回転運動も考慮した FT バージョンによる計算が可能となった。

改良されたコードを用いて、粒子層（赤色粒子）の間隙を移動する微粒子群（青色粒子）の挙動をシミュレートした結果の例を図 3 に示す。ただし  $U$  は単一粒子の場合の速度  $U$  および粒子半径  $a$  を用いて無次元化された量である。また、粒子層を通り抜ける際の微粒子群の流れ方向の厚さを  $L$  とし、時間変化を調べた結果の一例を図 4 に示す（ $L_0$  は初期の厚さ）。図 3 および図 4 の結果から、微粒子群が粒子層の影響を受けて拡がりながら移動する様子が観察された。さまざまな粒子層の空隙率および粒子配置で計算を行い、粒子層中を移動する個々の微粒子の速度および微粒子群全体の拡がり方との関連性について定量的に明らかにした。

また、運動する微粒子を含まず、固定された粒子層中を流体のみが透過する現象に対しても解析を行った。粒子層中の流体透過率は粒子体積率および粒子配列によって大きく影響を受けるが、本解析では粒子体積率は等しく粒子配列が異なる場合に着目した。SD 法により求めた式の関係と Darcy の法則により透過率を評価し、粒子間隙の連結性が流体の移動特性を決定するための重要なファクターであることを示した。さらに、間隙の空間分布特性を定量的に表すために空隙半径を評価し、空隙分布と内部の透過性との関係を定量的に明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 11 件)

大友涼子 他、浸透圧差によるヒト赤血球への水の浸入と溶血挙動の解析、可視化情報全国講演会（日立 2016）、2016.10.8、茨城大学（茨城県）。

大友涼子 他、屈曲した繊維層中の空隙分布が流体透過性に及ぼす影響、日本流体力学会年会 2016、2016.9.27、名古屋工業大学（愛知県）。

森和輝、大友涼子 他、屈曲した繊維層中の空隙構造が流体透過性に及ぼす影響、日本混相流学会混相流シンポジウム 2016、2016.8.8、同志社大学（京都府）。

R. Otomo et al., Fluid permeability through fibrous bed with tortuous structure, 9th International Conference on Multiphase Flow.

2016.5.26, Firenze (Italy).

大友涼子 他、浸透圧によるヒト赤血球の膨潤・溶血挙動、日本機械学会第 28 回バイオエンジニアリング講演会、2016.1.10、東京工業大学（東京都）。

大友涼子 他、繊維層中の空隙構造の評価と流体透過特性解析、可視化情報全国講演会（京都 2015）、2015.10.10、京都工芸繊維大学（京都府）。

大友涼子 他、低張液の浸入によるヒト赤血球の膨潤・溶血挙動に関する解析、日本混相流学会混相流シンポジウム 2015、2015.8.6、高知工科大学（高知県）。

大友涼子 他、有限厚さをもつ繊維層の端部近傍における流体透過特性、第 62 回レオロジー討論会、2014.10.15、福井市地域交流プラザ（福井県）。

大友涼子 他、有限厚さを有する粒子層中の透過流動、混相流シンポジウム 2014、2014.7.29、かでの 2・7（北海道）。

R. Otomo et al., End effect on fluid permeability of particulate layers, 11th World Congress on Computational Mechanics (WCCM XI), 5th European Conference on Computational Mechanics (ECCM V), 6th European Conference on Computational Fluid Dynamics (ECFD VI), 2014.7.21, Barcelona (Spain).

大友涼子 他、有限厚さを有する繊維層中の流体透過特性、第 37 回日本バイオレオロジー学会年会、2014.6.5、大宮ソニックシティビル 4F 市民ホール（埼玉県）。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大友 涼子 (OTOMO, Ryoko)  
関西大学・システム理工学部・助教  
研究者番号：00726862

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )